

---

# ANNALES

DE

# L'INSTITUT PASTEUR

---

## TRAITEMENT BACTÉRIOTHÉRAPIQUE DE LA LYMPHANGITE ULCÉREUSE

par C. TRUCHE

Parmi les affections qui atteignent notre cavalerie dans la campagne actuelle, les lymphangites occupent une place très importante. Tous les vétérinaires se trouvent aux prises avec ces graves maladies, qui fournissent un fort contingent d'« indisponibles » d'abord, de « piliers d'hôpital » ensuite. La longueur du traitement, les soins nombreux et répétés qu'il exige, mettent à l'épreuve la science et la patience du personnel médical,

Les deux principaux types, actuellement connus, sont la lymphangite épizootique, dont nous ne nous occuperons pas ici et la lymphangite ulcéreuse, à laquelle nous avons opposé une thérapeutique simple et efficace, comme on va le voir.

Rappelons que si, pour cette dernière affection, le traitement local donne quelques résultats, ceux-ci ne sont obtenus qu'après de longs mois et une récurrence reste toujours possible. Il faut compter également sur des guérisons incomplètes, laissant à leur suite de « grosses jambes », c'est-à-dire la réforme, voire l'abatage — en un mot, de très fortes pertes d'argent.

LE BACILLE DE LA LYMPHANGITE ULCÉREUSE  
(B. DE PREISZ-NOCARD).

*Le bacille de Preisz-Nocard*, dont nous nous bornerons à rappeler les caractères essentiels, jouit d'une grande ubiquité. Il s'attaque à diverses espèces animales, déterminant : chez le cheval (en dehors de la lymphangite ulcéreuse), l'acné contagieuse, des abcès rénaux...; chez le mouton, une véritable pseudo-tuberculose, des altérations caséuses viscérales et ganglionnaires...; chez le bœuf et le porc, des lésions splanchniques.

Nous l'avons jadis rencontré chez le lapin (abcès « spontanés ») et la chèvre (abcès dus à la « sortie » du microbe), au cours de l'immunisation contre la ricine (ces *Annales*, t. XXVII, p. 226, 1913).

C'est un organisme qui « simule » le bacille diphtérique par sa morphologie et ses caractères de culture, mais s'en distingue radicalement par sa virulence et la nature de sa toxine, comme nous allons le rappeler en deux mots.

**VIRULENCE.** — *Cobaye*. Sous la peau : abcès. Dans le péritoine : vaginalite, chez le mâle. Dans les veines : éruption pustuleuse généralisée, kératites, ostéopériostites, granulations ou nodules caséux dans le foie, la rate, les poumons... Les recherches de Panisset (ces *Annales*, juin 1910), poursuivies au laboratoire de M. Nicolle, ont montré la grande activité du b. de Preisz-Nocard vis-à-vis du cobaye; certains échantillons l'infectent à des doses excessivement faibles.

*Lapin*. Dans les veines : pseudo-tuberculose généralisée.

*Mouton*. Sous la peau : abcès. Dans le poumon : pneumonie caséuse (Sivori).

*Cheval*. Sous la peau : abcès. Dans une bosse sanguine : lymphangite (Nocard).

**TOXINE** (Carré. M. Nicolle, Loiseau et Forgeot). — Toutes les fois qu'on injecte aux animaux de grandes quantités de germes, on tue rapidement par la toxine qu'ils contiennent et qui ne diffère pas de celle des filtrats. Cette toxine fait périr aisément le *cobaye*, le *lapin* et le *mouton*, même sous la peau. Les symptômes et les lésions observés n'ont rien de commun avec ceux que détermine le poison diphtérique.

Carré a obtenu, le premier, un *sérum antitoxique*, qui neutralise spécifiquement la toxine du b. de Preisz-Nocard. Le même auteur a isolé, de l'organisme de certains moutons infectés d'une façon bénigne et localisée, des échantillons totalement avirulents (qui se sont montrés également atoxiques — M. Nicolle, Loiseau et Forgeot).

POUVOIR ANTITOXIQUE DU SÉRUM DE CHEVAUX ATTEINTS  
DE LYMPHANGITE ULCÉREUSE.

INUTILITÉ DE CE POUVOIR ANTITOXIQUE.

M. Nicolle, Loiseau et Forgeot ont observé que le sérum des chevaux atteints de lymphangite ulcéreuse (ou d'abcès rénaux) était doué d'un *pouvoir antitoxique spécifique*, égal ou même supérieur à celui des chevaux immunisés par Carré au moyen des filtrats. Ils ont basé, sur cette propriété, une méthode sûre et délicate de diagnostic (*toxino-diagnostic*), permettant de révéler l'infection à b. de Preisz-Nocard en l'absence de tout symptôme clinique (petits abcès du rein, bien tolérés). Pour les détails de la méthode, nous renvoyons au travail de Forgeot et Césari (ces *Annales*, t. XXVI, p. 102, 1912).

Si l'on met en parallèle la constatation d'un pouvoir antitoxique constant et le caractère de quasi incurabilité de la lymphangite, on peut affirmer que l'antitoxicité de leurs humeurs ne rend aucun service aux animaux atteints.

ABSENCE DE POUVOIR ANTIMICROBIEN DANS LE SÉRUM DES CHEVAUX  
ATTEINTS DE LYMPHANGITE ULCÉREUSE.

INDICATION D'UN TRAITEMENT BACTÉRIOTHÉRAPIQUE.

L'absence de tout pouvoir antimicrobien chez les chevaux malades (M. Nicolle, Loiseau et Forgeot) explique le caractère essentiellement rebelle de l'affection et conduit à essayer les méthodes bactériothérapiques. C'est ce qui avait été décidé, à *notre insu*, par M. Nicolle et Forgeot. Les circonstances ne leur ont pas permis de réaliser ce projet. Nous avons eu la même idée de notre côté et elle s'est montrée opportune, comme nous allons le prouver.

CHOIX D'UN « VACCIN ». SA PRÉPARATION. SON MODE D'EMPLOI.

*Choix d'un vaccin.*

Nous avons donné la préférence aux microbes tués par l'alcool-éther, d'une préparation et d'un usage très commodes.



Utilisés *couramment* au laboratoire depuis les travaux de M. Nicolle sur la morve (ces *Annales*, t. XX, p. 625, 698, 801, 1906), ils ont l'avantage d'éliminer la vie (c'est-à-dire la virulence) des germes, sans altérer leurs qualités antigènes (et même, dans une mesure souvent suffisante, leur toxicité). Avec ces « microbes alcool-éther », M. Nicolle et ses collaborateurs ont réussi, en effet, à préparer des sérums agglutinants et lytiques très efficaces, dont les propriétés ont été déjà mentionnées dans ces *Annales*, t. XXX, p. 363, 1916 (b. de Shiga) et t. XXXI, p. 73, 1917 (b. de Flexner) ou le seront ultérieurement.

#### *Préparation.*

Le b. de Preisz-Nocard, entretenu sur sérum coagulé, est ensemencé sur gélose à la pomme de terre, en boîte de Roux. On porte à l'étuve (37°) pendant vingt-quatre heures, puis on émulsionne le dépôt microbien obtenu dans l'eau physiologique. On centrifuge avec l'appareil de Jouan; on décante; on dilue le culot dans l'eau physiologique; on centrifuge une seconde fois et on décante finalement. Le dépôt est alors émulsionné soigneusement dans l'alcool; on « allonge » peu à peu avec une nouvelle quantité d'alcool et on ajoute volume égal d'éther. On conserve pendant vingt-quatre heures en flacons bouchés (les germes se collectent alors au fond des flacons); on décante l'alcool-éther et on fait sécher les dépôts à 37° (appareil à dessiccation de Jouan), en boîtes de Petri stériles.

On obtient, de la sorte, une poudre facile à conserver et à doser. Pour préparer le « vaccin », on émulsionne soigneusement cette poudre dans l'eau physiologique, à raison de 1 centigramme pour 1 cent. cube de liquide; on répartit en ampoules et on porte cinq minutes à 100° (« stérilisation de sûreté » et destruction des restes de toxine. Cette dernière précaution est, pour ainsi dire, superflue, puisque les chevaux infectés sont immuns contre le poison).

#### *Mode d'emploi.*

On injecte le « vaccin » de préférence sous la peau de l'encolure, à la dose de 1 centigramme. On renouvelle ce traite-

ment tous les 8 jours, une ou deux fois encore, selon la gravité du cas.

*Un léger engorgement local* se manifeste le lendemain et disparaît rapidement. — *Réaction thermique faible* (0,5 à 1°). — *Aucune réaction générale.*

On peut voir « les boutons » se dessécher, la suppuration se tarir et les « cordes » disparaître après la seconde injection, mais la guérison suit d'ordinaire la troisième. Les membres atteints reprennent leur mobilité et la peau sa souplesse, dès que les lésions locales ont disparu. Les récurrences, rares, cèdent à une nouvelle injection.

#### RÉSULTATS ACTUELS DU TRAITEMENT BACTÉRIOTHÉRAPIQUE.

PREMIERS ESSAIS (dépôts de Belleville et Grenelle) :

*Cheval n° 10812.* Boutons et cordes, au membre P. G. (diagnostic bactériologique). 3 injections, guérison en un mois.

*Cheval n° 12117.* Lymphangite très grave de toute la face externe du membre P. D. (diagnostic bactériologique). 3 injections, guérison.

(Ce cheval travaille depuis plus d'un an sans avoir eu la moindre récurrence).

*Cheval n° 10203.* Boutons au canon P. D. (diagnostic bactériologique). 3 injections, guérison.

*Cheval n° 10547.* Lymphangite du genou A. D. (diagnostic bactériologique). 3 injections, guérison.

*Cheval n° 11233.* Boutons et cordes du membre A. G. (diagnostic bactériologique). 3 injections, guérison.

ESSAIS ULTÉRIEURS, entrepris grâce à l'amabilité de M. le vétérinaire principal Jacoulet, dans un dépôt de chevaux malades :

*Première série :* 4 chevaux (n°s 7918, 7919, 7928, 7905). Lésions classiques, diagnostic bactériologique). 3 guérisons totales; une encore incomplète, mais très avancée.

*Seconde série :* 43 chevaux (pas d'examen bactériologique, mais lésions classiques). Résultats, peu après la 3<sup>e</sup> injection :

14 totalement guéris;

7 sans doute guéris; n'offrent plus que des lésions *superficielles* dues, selon nous, au grattage que détermine la gale dont ils sont atteints;

10 incomplètement guéris (auront besoin d'une injection);

6 moins améliorés (auront besoin de 2 injections);

3 morts d'affections diverses, au cours du traitement;

3 abattus pour vieillesse ou mauvais état général.

Dans cette seconde série, où le diagnostic bactériologique n'a pu être fait, figurent peut-être des sujets atteints d'une lymphangite à laquelle le b. de Preisz-Nocard demeure étranger. La majorité des cas se montrent cepen-

dant bel et bien authentifiés par le traitement, selon le vieil adage : *naturam morborum ostendunt curationes*.

AUTRES CAS, traités avec succès, dans diverses parties de la France.

Nous concluons que les méthodes bactériothérapiques, appliquées par nous au traitement de la lymphangite ulcéreuse, ont fourni des résultats positifs incontestables. Ces résultats sont intéressants non seulement au point de vue théorique et éloigné, mais encore au point de vue économique et immédiat.



# CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES ALDÉHYDES DU VIN

par J. LABORDE,

Directeur-adjoint de la Station agronomique et œnologique de Bordeaux.

## I. — INTRODUCTION.

L'existence de produits aldéhydiques dans les vins a été signalée tout d'abord par Dœbereiner, Liebig, Chancel, Magne-Lahens, etc. Berthelot, en 1863, admettait la formation d'aldéhydes par oxydation des alcools polyatomiques et leur attribuait un rôle dans le développement du bouquet. Pasteur, qui accepta cette théorie, y comprenait aussi l'aldéhyde acétique, que l'on trouve en proportions beaucoup plus importantes après un vieillissement prolongé de certains vins.

Depuis une vingtaine d'années, des travaux assez nombreux ont été faits sur la présence de l'aldéhyde acétique dans les liquides fermentés, en général, et dans le vin en particulier. Il en résulte que la formation et la disparition de cet aldéhyde peuvent être soumises à des causes d'ordre chimique et d'ordre physiologique.

En effet, on sait que l'aldéhyde peut se former par oxydation de l'alcool ordinaire au contact de l'air et que le phénomène est favorisé par des actions catalytiques. M. Trillat s'est occupé tout spécialement de diverses influences de cette nature en 1902 et en 1908.

M. Dubourg pensait, en 1903, que l'aldéhydification par voie physiologique est peu probable ; les organismes aérobies, levures, mycodermes, moisissures, qui semblent la produire, agiraient plutôt comme agents catalytiques. Mais, d'après les expériences de M. Trillat, les mycodermes du vin sont aldéhydifians par leurs propriétés vitales mêmes.

Cette action physiologique devient tout à fait caractéristique

avec la levure de bière, lorsqu'elle est agitée au contact de l'air dans un liquide alcoolique, d'après les expériences de MM. Trillat et Sauton. Aussi, c'est surtout à une influence analogue qu'il faut rattacher les résultats obtenus par MM. Kayser et Demolon, qui ont vu l'aldéhyde augmenter dans les vins et autres liquides fermentés restés en contact avec leurs lies pendant un temps plus ou moins long avec accès de l'air.

Inversement, MM. Trillat et Sauton ont observé une disparition de l'aldéhyde mis en contact avec de la levure vivante en milieu anaérobie, ce qui est d'ailleurs en opposition avec des expériences antérieures de M. Roeser, dans lesquelles diverses levures de vin, faisant fermenter un liquide sucré complètement à l'abri de l'air, donnaient toutes de petites quantités d'aldéhyde.

Ces divergences peuvent s'expliquer par les conceptions nouvelles sur le rôle de l'aldéhyde dans la fermentation alcoolique, d'après les recherches de Kotytschew et de Neuberg. En effet l'aldéhyde résultant de la dislocation du sucre par la levure serait, dans la formation de l'alcool, un produit intermédiaire que l'influence hydrogénante du milieu transformerait au fur et à mesure de son apparition; mais il pourrait échapper à cette influence en petite quantité, suivant les conditions de milieu.

Cette théorie trouve une certaine confirmation dans les faits signalés par Passerini, Martinand, Peltier et moi-même, d'après lesquels un liquide fermentant en présence d'acide sulfureux combiné au sucre, s'enrichit en aldéhyde, même si l'accès de l'air est complètement supprimé. L'acide sulfureux, dégagé de sa combinaison avec le sucre, se combine aussitôt à l'aldéhyde et le soustrait ainsi à l'hydrogénation.

Quand on introduit, dans un liquide en fermentation alcoolique, de l'aldéhyde acétique, il est difficile de mettre en évidence sa transformation en alcool éthylique, parce que le liquide en contient déjà beaucoup. Mais, avec les aldéhydes supérieurs, on arrive plus facilement à démontrer leur hydrogénation. C'est ainsi que Peltier, avec l'aldéhyde butylique et Neuberg, avec l'aldéhyde valérique, ont caractérisé la production des alcools butylique et amylique correspondants.

Cette action hydrogénante ou réductrice du milieu en ferment-



tation, qui est d'ailleurs bien connue et qui s'exerce sur un grand nombre de substances, fait supposer la présence d'une réductase sécrétée par les levures, car elle existe dans le suc de levure d'après A. Harden ; mais elle n'a pas encore été nettement caractérisée dans les liquides fermentés.

M. Trillat fait jouer à l'aldéhyde un rôle très actif dans l'insolubilisation de la matière colorante du vin pendant le vieillissement. En outre, en se polymérisant et se résinifiant, grâce à la présence d'ammoniaque produite par les ferments des maladies du vin, l'aldéhyde serait la cause de l'apparition de certains goûts amers, notamment celui qui correspond à la maladie de l'amertume.

Plus récemment, M. Voisenet a trouvé, dans des vins de Bourgogne très amers, de l'acroléine qui semble provenir de l'attaque de la glycérine par le ferment de l'amertume, et ce serait à cet aldéhyde ou à ses produits de polymérisation que l'on devrait attribuer le goût amer des vins malades.

La question de l'origine et des variations des produits aldéhydiques contenus dans les vins est donc très complexe. Or nos connaissances à ce sujet sont encore assez imparfaites ; j'ai voulu contribuer à les préciser un peu et je vais indiquer les résultats de mes recherches sur les influences chimiques et physiologiques qui entrent en jeu.

## II. — MÉTHODE DE DOSAGE DE L'ALDÉHYDE.

Les quantités des produits aldéhydiques que l'on a à doser dans les vins étant généralement faibles, la méthode qui convient le mieux est la méthode colorimétrique au bisulfite de rosaniline. Elle ne donne qu'un résultat global, mais dans lequel l'aldéhyde acétique a toujours une importance beaucoup plus considérable que les autres produits qui peuvent l'accompagner (1).

Ce dosage dans les vins ou leurs dépôts comporte deux opérations distinctes. Dans la première, on dégage l'aldéhyde par

(1) Nous verrons plus loin comment on peut caractériser des traces d'aldéhyde formique et d'acroléine.

distillation en le concentrant, si c'est nécessaire, dans un volume plus petit de liquide distillé que l'on amène à un volume connu en ajoutant de l'alcool pur, de façon que le titre final de la solution alcoolique soit de 50°; dans la deuxième opération, on détermine la dose d'aldéhyde contenu dans ce liquide, suivant les indications de la méthode officielle.

*1° Distillation.* — Dans mes dosages, la distillation était faite, en général, sur 40 cent. cubes de vin, additionnés de 2 cent. cubes d'acide phosphorique sirupeux, suivant les indications de M. Trillat, et introduits dans une fiole d'Erlenmayer de 125 cent. cubes, fermée par un bouchon de caoutchouc portant un tube abducteur à deux petites boules, relié ensuite à un réfrigérant à serpentín de verre.

Le titre alcoolique du vin étant connu d'avance, on sait quelle est la quantité d'alcool pur à ajouter pour avoir 50° dans le volume final de 20 cent. cubes dans lequel doit être concentré l'aldéhyde. Si, par exemple, on a un vin à 10°, les 40 cent. cubes de ce vin contenant 4 cent. cubes d'alcool pur, il faut ajouter 6 cent. cubes d'alcool absolu, ou 6 c.c. 3 à 95°.

Cet alcool est introduit dans l'entonnoir du tube du réfrigérant; il mouille ce tube et s'écoule par son extrémité effilée, qui plonge jusqu'au fond d'un tube à essai jaugé à 20 cent. cubes.

L'entonnoir étant relié par un bouchon de caoutchouc au tube abducteur à boules, et celui-ci au vase à distillation, on chauffe doucement, de façon que tout l'alcool soit chassé lorsqu'on a recueilli la quantité de liquide nécessaire pour avoir 20 cent. cubes avec l'alcool ajouté; l'opération doit durer au moins vingt minutes.

Dans ces conditions, les plus petites quantités d'aldéhyde sont recueillies en totalité, car les vapeurs entraînées par l'air du vase, au début, se dissolvent dans l'alcool qui mouille les parois du tube du réfrigérant, puis dans l'alcool qui s'est écoulé dans le tube à essai et dans lequel barbote l'air en se dégageant. Des essais de contrôle ont montré que cette méthode de distillation est absolument parfaite et qu'il est inutile et même dangereux de se servir d'un courant de gaz

carbonique pour éviter l'oxydation de l'alcool, qui est nulle dans ces conditions.

Pour dégager l'aldéhyde retenu par les dépôts des vins, on met ces dépôts en suspension dans 30 cent. cubes d'eau environ et on ajoute 3 à 4 cent. cubes d'acide phosphorique ; on distille, on recueille d'abord 25 cent. cubes, puis on ajoute 15 cent. cubes d'eau distillée et on continue la distillation pour recueillir 15 cent. cubes de liquide en plus. Ces 40 cent. cubes de liquide distillé sont soumis ensuite à une seconde distillation, comme s'il s'agissait de 40 cent. cubes de vin.

2° *Titrage de l'aldéhyde.* — Pour le titrage colorimétrique de l'aldéhyde dans les liquides distillés, on fait un premier essai sur 10 cent. cubes, qui donne une indication approximative, et on répète l'opération sur les 10 cent. cubes restant, en prenant pour le témoin une quantité d'aldéhyde très voisine de celle qui a été déterminée d'abord. Lorsque les quantités d'aldéhyde sont assez importantes, de 50 à 100 milligrammes par litre et au delà, on peut employer un témoin à 100 milligrammes par litre et se servir de la courbe que l'on peut construire avec les chiffres du tableau de l'instruction officielle.

*Dosage de l'aldéhyde en présence d'acide sulfureux.* — Dans les vins qui contiennent de l'acide sulfureux, notamment dans les vins liquoreux, l'aldéhyde est à l'état d'acide aldéhyde-sulfureux, qui est décomposé par l'acidité et la chaleur. Les deux composants étant recueillis dans le liquide distillé, leur recombinaison rapide entraînerait des différences, si on appliquait simplement la méthode ci-dessus. On doit alors la modifier comme suit :

Dans le tube où l'on recueille le liquide distillé et qui contient déjà l'alcool complémentaire, on introduit le réactif, de façon que les produits de la distillation arrivent immédiatement en contact avec lui. L'alcool ajouté, les 4 cent. cubes de réactif et le liquide distillé doivent donc faire un total de 14 cent. cubes, si on opère sur 20 cent. cubes de vin seulement.

La coloration commence à apparaître dès les premiers moments de la distillation et, lorsque le volume final de 14 cent. cubes est atteint, cette coloration a presque atteint son



maximum, si on a eu soin d'agiter le tube de temps en temps pour bien mélanger les différentes couches de liquide de densités différentes.

Ce mode opératoire est préférable à celui qui consiste à saturer complètement l'acidité du vin, en dépassant assez cette saturation pour décomposer complètement l'acide aldéhyde-sulfureux et fixer l'acide sulfureux. Dans ces conditions, si on a un vin avec une dose un peu forte d'aldéhyde, 400 à 500 milligrammes par exemple, il y a des pertes dues à ce que l'excès de soude retient de l'aldéhyde.

Dans les conditions précédentes, au contraire, les résultats sont tout à fait exacts, ainsi que l'ont montré de nombreux essais synthétiques.

Dans le cas où le vin contient une quantité assez importante d'aldéhyde libre ou d'acide aldéhyde-sulfureux, il suffit d'opérer sur 10 et même 5 cent. cubes de vin seulement, qui doivent être dilués à 20 cent. cubes, surtout si le sucre est abondant et, par conséquent, susceptible de se caraméliser sous l'action de l'acide phosphorique.

### III. — ALDÉHYDIFICATION CATALYTIQUE.

Dans son travail sur l'*Aldéhyde acétique dans les vins*, M. Trillat a étudié certaines influences physiques et chimiques dont dépend la formation de l'aldéhyde. Il a trouvé que la proportion augmente avec la nature des récipients du vin et avec le contact des corps poreux ou divisés. La teneur en aldéhyde du vin agité ou exposé à l'air varie avec la température, la nature des parois et leur degré de porosité, l'exposition à la lumière et le degré d'acidité. L'acide sulfureux favorise l'aldéhydification du vin blanc, comme l'avait déjà signalé M. Mathieu. En somme, d'après M. Trillat, le vin se comporte comme les solutions aqueuses d'alcool, mais le phénomène semble amplifié.

Ces diverses circonstances de l'aldéhydification sont en partie celles où peut se trouver le vin pendant sa conservation; les résultats indiqués permettent donc de se faire déjà une idée du phénomène chimique.

Les observations que j'ai faites de mon côté m'ont fait voir

que ce phénomène dépend de la nature du vin beaucoup plus que ne l'indique M. Trillat. C'est surtout avec les vins jeunes, ne contenant pas d'aldéhyde, ou n'en contenant que des traces seulement, que l'on peut saisir facilement les variations de sa production sous l'influence de l'aération.

Dans mes essais, les conditions expérimentales étaient les suivantes : Les prises de vin, de 50 cent. cubes, étaient introduites dans des vases d'Erlenmayer de 250 cent. cubes de capacité, qui étaient ensuite bien bouchés au liège et laissés au repos à la température du laboratoire, oscillant peu autour de 15°, et avec un éclairage modéré. Dans ces conditions, on observe que la quantité d'aldéhyde produite au bout d'un temps déterminé, trois jours par exemple, varie avec chaque vin. Elle ne dépasse pas quelques milligrammes par litre avec certains vins rouges ou blancs, tandis qu'elle va au delà de 50 milligrammes avec d'autres, sans que l'on puisse établir une relation constante entre ces différences et celles de la constitution sommaire des vins.

L'aldéhydification des vins nouveaux peut être très faible pendant les premiers jours d'aération et augmenter ensuite assez rapidement; mais, dans tous les cas, lorsqu'une certaine dose est atteinte, l'augmentation ultérieure est beaucoup moins sensible. Ainsi un vin rouge, ne contenant que des traces d'aldéhyde avant aération, en avait 8 milligrammes au bout de deux jours, 12 milligrammes au bout de quatre jours, et au bout de six mois de conservation dans une bouteille en vidange sans altération aucune, la dose s'était élevée à 20 milligrammes seulement. Dans les mêmes conditions, d'autres vins auraient pu en avoir plus de 100 milligrammes. Et, très souvent, des doses pareilles sont obtenues au bout de quelques semaines seulement.

On sait que l'exposition du vin à l'air entraîne une absorption d'oxygène qui se combine à divers éléments du vin. C'est incontestablement à ce phénomène qu'est due la formation rapide d'aldéhyde dans les conditions expérimentales précédentes, mais l'expérience suivante l'établit parfaitement.

Dans un ballon de 1 litre de capacité, on introduisit 500 cent. cubes de vin jeune, non aldéhydifié et privé de ses gaz par le vide; puis, après l'avoir fermé à la lampe, on l'exposa à la

lumière pendant six jours, en l'agitant un peu chaque jour. Au bout de ce temps, on obtint les résultats suivants :

	VIN PRIMITIF	VIN AÉRÉ
Oxygène combiné. . . . .	»	66 c. c.
Aldéhyde . . . . .	traces	0 gr. 025

La quantité d'aldéhyde formée n'est guère que le  $1/10^e$  de celle qui correspond à tout l'oxygène combiné, c'est-à-dire ne pouvant être chassé par l'ébullition du vin.

Un vin exposé à l'air dissout beaucoup d'oxygène, mais il n'y a combinaison complète qu'au bout d'un temps plus ou moins long. Pendant ce temps, la production d'aldéhyde continue à s'exercer, mais en restant toujours très inférieure à celle qui correspond à tout l'oxygène combiné, comme nous le verrons plus loin.

Il suffit d'ailleurs que le vin ait absorbé de l'oxygène, par une aération de quelques instants, pour que l'aldéhydification se produise ensuite à l'abri de l'air, et, si on élève la température, elle devient beaucoup plus rapide. Ces faits ont été établis par les expériences suivantes :

1° Un vin rouge préalablement stérilisé par chauffage à  $80^{\circ}$  en vase clos, ne contenant alors que des traces d'aldéhyde, fut agité au contact de l'air pendant quelques instants et introduit peu après dans un tube qui fut scellé à la lampe, en ne laissant qu'une très petite bulle d'air à l'extrémité du tube étiré en pointe;

2° Un autre vin, également stérilisé, contenant seulement 5,5 milligrammes d'aldéhyde par litre après quatre jours d'exposition à l'air, fut ensuite mis en tube scellé comme le précédent.

Au bout d'un mois de conservation, le premier vin contenait 18 milligrammes et le second 19,5 milligrammes d'aldéhyde, soit une augmentation de 18 et 14 milligrammes par litre;

3° Deux vins contenant respectivement 12 et 15 milligrammes d'aldéhyde, furent un peu agités à l'air avant d'être chauffés en vase clos à  $80^{\circ}$ ; après refroidissement spontané qui dura une demi-heure, le dosage de l'aldéhyde donna 22,5 pour le premier et 25 milligrammes pour le second, soit une augmentation de 10 milligrammes dans les deux cas.



Par conséquent, lorsque le vin a dissous de l'oxygène de l'air, il devient ensuite plus ou moins riche en aldéhyde. Or, si l'on compare, dans les mêmes conditions, l'aldéhydification du vin à celle d'un liquide artificiel de constitution assez analogue, c'est-à-dire formé d'une solution alcoolique à 40 p. 100, contenant de la glycérine, les acides et les sels minéraux et organiques du vin, y compris des traces de fer, des matières azotées et du tannin, on constate que la formation d'aldéhyde est à peu près nulle, même au bout d'un temps de contact avec l'air beaucoup plus long que pour le vin.

Il y a donc dans le vin une cause favorisante qui est vraisemblablement de nature catalytique et qui dépend de la constitution propre de ce liquide naturel. En raison de son origine, le vin peut contenir des diastases oxydantes qui sont des agents catalytiques, mais nous avons déjà vu qu'après chauffage à 80°, le vin s'aldéhydifie encore assez facilement et, comme les diastases sont détruites à cette température, il est certain qu'il existe une action catalytique purement chimique.

**ACTION CHIMIQUE.** — Les matières tannoïdes du vin, la matière colorante et l'ænotannin sont, comme on sait, très facilement oxydables, on peut donc supposer qu'elles peuvent être un intermédiaire pour l'oxydation de l'alcool.

D'après les expériences suivantes, cette relation paraît, en effet, se dégager nettement :

Des solutions de gallotannin pur dans l'alcool pur à 40 p. 100, ayant été saturées en grande partie par la potasse, furent exposées à l'air dans les conditions indiquées précédemment, et, au bout de quarante-huit heures, le dosage de l'aldéhyde donna les chiffres suivants :

TITRE DES SOLUTIONS DE GALLOTANNIN par litre	ALDÉHYDE TROUVÉ par litre
1 gr. 00	0 gr. 0065
2 gr. 50	0 gr. 0250
5 gr. 00	0 gr. 0250
10 gr. 00	0 gr. 0470

La quantité d'aldéhyde formée est donc sensiblement proportionnelle au titre en tannin des solutions.

Dans une autre expérience, le titre en tannin était de

4 grammes par litre pour tous les essais, mais pour chacun d'eux la saturation par la potasse était variable : la saturation exacte étant obtenue avec 1 c.c. 2 de potasse normale pour 100 cent. cubes de solution tannique. Le tableau ci-dessous donne les volumes de potasse normale employés, les volumes d'oxygène absorbés et les quantités d'aldéhyde produites au bout de quarante-huit heures de contact avec l'air.

VOLUME DE KOH AJOUTÉ par litre	OXYGÈNE ABSORBÉ par litre	ALDÉHYDE FORMÉ par litre	OXYGÈNE correspondant à L'ALDÉHYDE
»	125 c. c.	Traces	»
6 c. c.	325 c. c.	0 gr. 030	7 c. c. 8
12 c. c.	325 c. c.	0 gr. 065	16 c. c. 7
24 c. c.	470 c. c.	0 gr. 085	22 c. c. 0

La quantité d'aldéhyde formée dépend ici de la quantité de tannin saturé par l'alcali ajouté, et un excès d'alcali favorise l'aldéhydification, comme il favorise l'absorption d'oxygène par le tannin. Mais cette quantité d'oxygène est bien supérieure à celle qui correspond à l'aldéhyde formé par oxydation de l'alcool, puisque cette dernière n'est environ que le vingtième de la quantité totale.

Il est vrai que la formation d'aldéhyde peut augmenter ultérieurement sans absorption nouvelle d'oxygène, mais la proportion ne dépasse guère 10 p. 100 lorsque l'équilibre s'est établi. Par conséquent, ce phénomène d'aldéhydification a tous les caractères d'une action catalytique et c'est bien la combinaison du tannin avec l'alcali qui en est l'agent, car le tannin seul n'a pas d'influence sensible et la potasse seule non plus. En effet, des témoins faits avec des solutions alcooliques simplement alcalinisées aux mêmes doses n'ont rien donné pendant le même temps, ou des traces très faibles d'aldéhyde seulement.

Si on remplace, dans les solutions de tannin saturé par la potasse, l'alcool éthylique par les alcools supérieurs, propylique, butylique, ou amylique, ou par la glycérine, il y a également une aldéhydification très nette dans tous les cas, mais beau-

coup moins intense qu'avec l'alcool ordinaire, sauf cependant pour la glycérine.

Or on sait que dans le vin, les matières tannoïdes, couleur et œnotannin pour le vin rouge, et œnotannin seul pour le vin blanc, sont toujours plus ou moins combinées avec la potasse, malgré l'acidité organique du vin; cette combinaison peut donc jouer le même rôle que la précédente, et son influence est sans doute favorisée par la constitution particulière du milieu, indépendamment de la présence des oxydases.

Les petites quantités de fer unies aux matières tannoïdes paraissent être capables d'aider également leur action dans une petite mesure, comme l'a déjà constaté M. Trillat. Ainsi, en exposant à l'air une solution de tannate ferrique (1), à 1 gramme de fer par litre pour 4 grammes de tannin, légèrement acidulée par l'acide tartrique, j'ai observé la formation de quelques milligrammes d'aldéhyde au bout de trois jours; mais, avec une proportion de fer dix fois plus faible, il ne se forme que des traces d'aldéhyde; et, que le fer soit au maximum ou au minimum d'oxydation, le résultat est le même.

En somme, c'est de la quantité de potasse combinée aux matières tannoïdes que paraît dépendre principalement l'aldéhydification du vin; en effet, si on lui ajoute des acides minéraux ou organiques, on voit en général le phénomène se ralentir plus ou moins.

Ce fait peut être démontré d'une manière très nette avec certains vins qui ont perdu une grande partie de leur acidité fixe, celle de la crème de tartre notamment, sous l'action des ferments de maladie, tels que celui qui a fourni à l'analyse les chiffres ci-après :

Alcool. . . . .	10°
Acidité totale. . . . .	1 gr. 61
Acidité volatile. . . . .	1 gr. 48
Acidité tartrique. . . . .	traces
Potasse (KOH) . . . . .	0 gr. 68
Matières tannoïdes. . . . .	2 gr. 30
Cendres. . . . .	3 gr. 82

(1) M. Stœcklin a reconnu que le tannate ferrique peut constituer une sorte de peroxydase, car il détermine une aldéhydification rapide des solutions alcooliques en présence de l'eau oxygénée.



Ce vin avait une couleur tuilée terne due à la faiblesse de l'acidité fixe qui laissait une partie importante de la potasse combinée aux matières tannoïdes. En effet, l'addition d'acide phosphorique ou d'acide tartrique ravivait considérablement cette couleur.

Les quatre essais différents faits avec ce vin donnèrent les résultats suivants :

NATURE DES ESSAIS	ALDÉHYDE PAR LITRE
Vin naturel avant aération . . . . .	0 gr. 0025
— après 72 heures d'aération . . . . .	0 gr. 0160
Vin stérilisé à 80°, après 72 heures d'aération . . . . .	0 gr. 0160
Vin acidifié par $P^2O^5$ , après 72 heures d'aération. . . . .	0 gr. 0080
— par $C^2H^4O^6$ , après 72 heures d'aération. . . . .	0 gr. 0103

Dans les essais acidifiés, l'aldéhydification avait été notablement atténuée, et plus avec l'acide minéral qu'avec l'acide organique, bien que les quantités ajoutées fussent équivalentes toutes les deux à la moitié de la potasse contenue dans le vin.

La stérilisation du vin à 80° n'a eu aucune influence.

Dans les deux premiers essais, le vin avait noirci, puis s'était troublé beaucoup, il avait subi une sorte de casse noire due à l'oxydation rapide des matières tannoïdes, tandis que les vins acidifiés avaient conservé leur couleur rouge et leur limpidité.

On pourrait penser, avec M. Trillat, que l'insolubilisation rapide des matières tannoïdes de ce vin était due justement à cette aldéhydification facile, suivie d'une combinaison avec ces matières entraînant leur coagulation. Mais la recherche de l'aldéhyde dans le dépôt qui se redissolvait entièrement à chaud dans l'acide phosphorique n'en donnait que des traces.

ACTIONS DIASTASIQUES OXYDANTES. — Le vin peut contenir deux oxydases différentes : 1° Celle du raisin ou *œnoxydase* découverte par M. Martinand, mais qu'on n'y trouve qu'en quantité très faible, comme dans le raisin (1);

2° Celle qui détermine les phénomènes de la *casse brune* des vins, qui a été révélée par Gouirand et qui provient de la pourriture des raisins par le *Botrytis cinerea*, comme je l'ai démontré; c'est donc une *phytoxydase*.

(1) MM. Bouffard et Sémichon ont également étudié de très près l'oxydase des raisins et son rôle en vinification.

*Influence de l'œnoxydase.* — La présence de l'œnoxydase s'accuse très fréquemment dans les vins blancs de raisins sains qui sont exposés à l'air, car le vin naturel brunit plus ou moins, tandis que le vin chauffé à 83° change toujours beaucoup moins de couleur.

On observe une différence dans le même sens pour l'aldéhydification, différence qui est en relation avec la nature du moût qui a fourni le vin et non avec la fermentation de ce moût, comme le montre l'expérience suivante :

Un même moût de raisins sains très mûrs fut divisé en deux parties, l'une restant en nature, l'autre étant chauffée à l'ébullition. Ces deux échantillonsensemencés avec la même levure fermentèrent ensuite à l'abri de l'air; ils donnèrent ainsi deux vins qui ne contenaient que de très petites quantités d'aldéhyde. Après clarification spontanée, ils furent soumis à l'action de l'air, en nature et après chauffage à 83°. Les résultats de l'aldéhydification furent les suivants :

		VIN NON CHAUFFÉ	VIN CHAUFFÉ
		—	—
Moût nature. . .	{ Avant aération . . . . .	Traces.	Traces.
	{ Après aération . . . . .	20 milligr.	5 milligr.
Moût bouilli. . .	{ Avant aération . . . . .	40 milligr.	40 milligr.
	{ Après aération . . . . .	45 milligr.	40 milligr.

Donc le vin non chauffé du moût naturel s'était seul sensiblement aldéhydifié pendant les 48 heures que dura l'exposition à l'air, et il avait légèrement bruni par rapport à tous les autres.

Mais on ne peut se contenter de ces résultats pour établir l'influence de l'œnoxydase sur l'aldéhydification. Dans les expériences suivantes, j'étudierai non seulement l'action de la chaleur mais aussi celle de l'acide sulfureux, et l'activité du précipité produit par l'alcool fort, en considérant d'abord les deux premiers agents ensemble.

*Action de la chaleur et de l'acide sulfureux.* — Pour étudier ces deux actions, on doit choisir de préférence un vin rouge ne contenant pas d'aldéhyde et s'aldéhydifiant rapidement et assez énergiquement pendant une exposition de quelques jours à l'air.

L'application de la chaleur doit être faite dans les conditions de la pasteurisation en bouteille, c'est-à-dire par un chauffage au bain-marie de la bouteille pleine et fermée par un bouchon

de liège ficelé, la température atteinte par le vin étant de 80° au moins.

Le tableau suivant donne des résultats comparatifs pour des vins divers traités par la chaleur et par une dose de 100 milligrammes d'acide sulfureux par litre; les quantités d'aldéhyde formées sont exprimées en milligrammes par litre.

VINS DIVERS	AÉRATION	VIN NATUREL	VIN CHAUFFÉ	VIN SULFITÉ	VIN CHAUFFÉ et SULFITÉ
N° 1.	4 jours. 7 —	15 30	9 31	Traces 33	Traces 20
N° 2.	3 jours. 6 —	9 30	18 48	5,5 14,5	3 7
N° 3.	3 jours. 6 jours.	42 60	20 31	19 62,5	10 17,5

Les vins chauffés s'aldéhydifient moins vite que les vins naturels, mais il y a une exception, qui n'est pas rare, et qui s'explique par l'existence d'une réaction inverse de l'aldéhydification, comme je le montrerai plus loin.

L'influence retardatrice de la chaleur s'atténue après un certain temps d'aération variable avec la nature du vin. Pour les vins blancs, beaucoup plus pauvres en matières tannoides, la différence persiste presque indéfiniment dans certains cas.

Si l'acide sulfureux est ajouté dans le vin naturel, son influence s'exerce en général dans le même sens que le chauffage et souvent avec plus d'intensité; mais, comme pour la chaleur, l'équilibre peut s'établir avec une aération assez prolongée. En combinant l'action du chauffage à celle de l'acide sulfureux, l'aldéhydification est considérablement réduite, même après une très longue aération.

*Activité du précipité produit par l'alcool.* — Dans l'expérience suivante, on a traité 200 cent. cubes d'un vin jeune s'aldéhydifiant rapidement à l'air; après repos d'une heure, le précipité a été redissous dans 50 cent. cubes d'eau alcoolisée à 10 p. 100 et acidifiée à 0,2 p. 100 d'acide tartrique, et on a comparé l'aldéhydification de ce liquide à celle du vin primitif et à celle



d'un autre vin ayant été chauffé et auquel on avait ajouté un précipité pareil au précédent.

APRÈS 4 JOURS D'AÉRATION	SOLUTION DU PRÉCIPITÉ	VIN PRIMITIF	AUTRE VIN PRÉALABLEMENT CHAUFFÉ
Avec chauffage préalable . .	milligr. Traces	milligr. 4,5	milligr. 4,5
Sans chauffage préalable . .	10,0	19,0	22,5

Donc les deux précipités contenaient de l'œnoxydase, dont l'influence favorisante pouvait s'exercer dans des milieux autres que le vin primitif et indépendamment de la présence des matières tannoïdes.

*Influence du vieillissement.* — Tous les résultats qui précèdent ont été obtenus avec des vins jeunes, expérimentés peu de temps après leur sortie de la cuve et non aldéhydifiés. Des vins ayant séjourné assez longtemps en barrique et ayant reçu de l'acide sulfureux, ou ayant vieilli en bouteille conviendraient beaucoup moins.

En effet l'aldéhyde formé serait une gêne, et même s'il avait disparu complètement dans les conditions qui seront étudiées plus loin, le vin ne serait plus apte à fournir les résultats indiqués; car la capacité d'absorption du vin nouveau pour l'oxygène est limitée, et cet oxygène, après combinaison avec les différents éléments oxydables, modifie leur constitution et, par suite, leurs propriétés chimiques.

L'œnoxydase, notamment, perd assez rapidement toute son activité et les matières tannoïdes, la plus grande partie de la leur. De sorte que l'aldéhydification des vins vieux est, en général, beaucoup moins importante que celle des vins jeunes, comme j'ai pu le constater avec des vins conservés dans différentes conditions et pendant plus ou moins longtemps.

*INFLUENCE DE L'OXYDASE DU Botrytis cinerea.* — Si on considère maintenant des vins rouges ou blancs provenant de raisins altérés par la pourriture grise ou la pourriture noble, il semble bien, d'après ce qui précède, que l'oxydase que contiennent ces vins, souvent en abondance, puisse être un agent d'aldéhydification très actif à cause des phénomènes d'oxydation si éner-

giques qu'elle provoque, et qui entraînent l'altération connue sous le nom de *casse brune*. C'est ainsi que M. Pottevin et M. Cazeuville ont rattaché l'existence de quantités assez importantes d'aldéhyde trouvées dans les vins cassés à l'action de l'oxydase. Cependant M. Dubourg et M. Passerini refusent à l'oxydase du *Botrytis* la faculté de favoriser l'aldéhydification des solutions alcooliques ou du vin.

D'après l'action de la formaldéhyde sur la couleur rouge des vins découverte par M. Trillat, dans laquelle il se forme une laque insoluble, et l'action analogue constatée par M. Martinand pour l'aldéhyde acétique lorsqu'il est ajouté au vin en proportion assez forte, on pouvait supposer que la précipitation de la couleur dans les vins cassables était en relation avec une aldéhydification intense de l'alcool.

Mais il est établi actuellement que l'insolubilisation des matières tannoïdes du vin est indépendante de la présence de l'alcool et, par suite, d'une production d'aldéhyde. Cela résulte des expériences qui m'ont conduit à la découverte de l'oxydase du *Botrytis cinerea* et de ses propriétés. M. Martinand a trouvé également que du moût de raisin, des solutions de matières colorantes végétales se rapprochant de celle du vin, des baies de sureau, de myrtilles, etc., du tannin, ne contenant aucun alcool susceptible de donner un aldéhyde, sont rapidement précipitées après oxydation due à l'air et à l'oxydase. Donc on ne peut attribuer la coagulation des matières tannoïdes des vins rouges ou blancs qui cassent qu'à une oxydation directe de ces matières; d'ailleurs le précipité ne contient pas d'aldéhyde.

Dans un travail antérieur, j'ai étudié la différence qui existe entre l'oxydation des vins sains et celle des vins cassables; je vais rappeler ici les résultats obtenus pour les rapprocher ensuite de ceux fournis par l'étude de l'aldéhydification :

1° La capacité d'absorption d'un vin pour l'oxygène de l'air pendant un temps donné, une semaine par exemple, dépend de la constitution du vin, notamment de sa richesse en matières tannoïdes; cette capacité peut être plus grande pour un vin sain que pour un vin cassable, mais le rapport  $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}}$  de l'acide carbonique produit à l'oxygène absorbé est toujours plus grand pour le vin cassable que pour le vin sain; cette différence dis-

paraît complètement lorsque le vin cassable a été chauffé à 80°.

2° L'addition d'acide sulfureux en quantité strictement nécessaire pour empêcher la casse ne modifie pas sensiblement la valeur du rapport  $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}}$  des vins cassables, tandis que la même quantité abaisse celui des vins sains.

3° Dans les vins cassables, l'oxydation est très active pendant les premiers jours et diminue de plus en plus ensuite; la présence de  $\text{SO}_2$  régularise l'absorption d'oxygène, de sorte que, au bout d'une semaine, le volume absorbé est sensiblement le même que pour le vin non traité, sans que les matières tannoïdes soient altérées.

*Aldéhydification des vins cassables.* — L'expérience va nous indiquer maintenant dans quelle mesure s'aldéhydifient les vins cassables exposés à l'air et quelle est l'influence du chauffage et de l'acide sulfureux.

Je considérerai d'abord un vin rouge de 1907 conservé en bouteille depuis cette époque, mais ayant perdu une forte proportion de ses matières tannoïdes; il donnait les réactions très marquées de l'oxydase et cassait fortement en brun au bout de quelques heures d'aération. Dans les conditions habituelles d'exposition à l'air, il donna les résultats suivants :

ALDÉHYDE PAR LITRE

Vin primitif (avant aération) . . . . .	Néant.
Vin primitif après 18 heures d'aération . . . . .	Néant.
Vin chauffé à 80° après 18 heures d'aération . . . . .	Traces.
Vin primitif après 15 jours d'aération . . . . .	0 gr. 0015
Vin chauffé à 80° après 15 jours d'aération . . . . .	0 gr. 0065

Quoique faible, l'aldéhydification présente des différences très nettes entre le vin non chauffé et le vin chauffé; le premier qui s'était complètement cassé n'avait que des traces d'aldéhyde même après cette très longue aération, alors que le second qui était resté parfaitement limpide en avait une quantité beaucoup plus sensible.

Mais cette expérience est peu concluante, parce que ce vin, quoique riche en oxydase, était beaucoup trop vieux et usé et, par suite, peu apte à s'aldéhydifier, comme je l'ai indiqué plus haut.

Dans une autre expérience, ce même vin cassable fut mélangé à un vin sain en différentes proportions, puis ces mélanges

furent exposés à l'air en même temps que des mélanges témoins ayant été préalablement chauffés à 80°. Au bout de 4 jours on trouva les quantités suivantes d'aldéhyde par litre :

VIN CASSABLE	VIN NON CASSABLE	MÉLANGES NON CHAUFFÉS	MÉLANGES CHAUFFÉS
p. 100	p. 100	milligr.	milligr.
20	80	23	25
40	60	17	26
60	40	8	40,5
80	90	3	Traces.
100	»	Traces.	Traces.
	100	16	15,5

Le n° 1 des mélanges non chauffés était peu cassé, mais les autres l'étaient complètement, ce qui montre que le vin cassable primitif contenait beaucoup d'oxydase.

On voit que l'intensité de l'aldéhydification était en raison inverse de la quantité de vin cassable qui entraît dans le mélange, et, ici encore, les vins chauffés, n'ayant pas cassé, s'étaient aldéhydifiés plus que les vins qui avaient fortement cassé. On pourrait donc conclure que cette oxydase n'est pas un agent d'aldéhydification, mais ce serait en contradiction complète avec les résultats de l'expérience suivante faite avec un vin blanc provenant d'un moût ayant servi de liquide de culture au *Botrytis cinerea* pur.

Ce vin, très riche en oxydase et non aldéhydifié, fut mélangé en proportion variable avec un vin rouge préalablement pasteurisé à 80°, et après exposition à l'air on trouva les chiffres ci-dessous :

VIN BLANC riche EN OXYDASE	VIN ROUGE SAIN	APRÈS 2 JOURS D'AÉRATION		APRÈS 4 JOURS D'AÉRATION	
		MÉLANGES NON CHAUFFÉS	MÉLANGES CHAUFFÉS	MÉLANGES NON CHAUFFÉS	MÉLANGES CHAUFFÉS
p. 100	p. 100	milligr.	milligr.	milligr.	milligr.
25	75	16	14,5	93	14,5
50	50	16	14	52	14
75	25	15	15	41	36
100	»	41	16	110	16
	100	42	12	14	12



Au bout de deux jours, la casse était très sensible dans le mélange n° 1 non chauffé et déjà très forte dans les deux autres dont les précipités étaient brun rouge et brun jaune. Le vin rouge sain n'avait pas changé d'aspect, et le vin blanc riche en oxydase avait à peine jauni parce qu'il était à peu près complètement dépouillé de tannin.

Pour la première partie de l'expérience, les résultats diffèrent déjà de ceux du tableau précédent, surtout avec le vin blanc pur. Pendant la deuxième partie, l'oxydation de la couleur des trois mélanges non chauffés s'était fortement accentuée et l'aldéhydification avait augmenté en raison de la proportion de vin blanc ajouté.

Donc l'oxydase contribue mieux à l'oxydation de l'alcool lorsque les matières tannoides du vin rouge sont suffisamment oxydées et par suite insolubilisées, et leur rôle serait ici l'inverse de celui qui leur a été attribué précédemment. Mais il est possible que cette oxydation brutale suivie d'une coagulation rapide favorise mal l'aldéhydification, soit parce que l'oxygène absorbé est surtout employé aux autres oxydations, soit parce que l'aldéhydification est une action plus lente.

Quant à la différence qui existe entre les résultats de cette dernière expérience et ceux de la précédente, elle tient à ce que, dans le vin cassable de 1907, il y avait, à côté de l'action oxydante, une action réductrice de l'aldéhyde très active, plus active même que l'aldéhydification vraisemblablement. Tandis que, dans le vin blanc et dans les mélanges avec du vin rouge pasteurisé, la désaldéhydification n'existait pas; l'influence de l'oxydase s'exerçait librement dans ces mélanges et avec beaucoup d'activité dans le vin blanc pur. Comme il ne contenait que des traces de matières tannoïdes déjà complètement oxydées, on voit que l'action de l'oxydase du *Botrytis* est indépendante de la présence de ces matières, comme celle de l'œnoxydase.

*Influence de l'acide sulfureux.* — L'addition d'acide sulfureux annihile l'action de l'oxydase sur les matières tannoïdes, de même que le chauffage du vin; mais ce n'est pas par le même mécanisme, ainsi que je l'ai montré depuis longtemps, et ainsi qu'on le voit encore par l'expérience suivante :

	APRÈS 3 JOURS D'AÉRATION	APRÈS 6 JOURS D'AÉRATION
Vin non chauffé . . . . .	9 milligr.	25 milligr.
Vin chauffé à 80° . . . . .	10 milligr.	11 milligr.
Vin non chauffé + 0 gr. 075 SO <sup>2</sup> . . . . .	12 milligr. 5	50 milligr.
Vin chauffé + 0 gr. 075 SO <sup>2</sup> . . . . .	9 milligr.	11 milligr.

Le vin non chauffé seul avait cassé. Au bout de 3 jours le précipité était très abondant et rouge brun; il était jaune brun après 6 jours. C'est surtout au bout de ce temps que les résultats sont bien nets; le vin naturel, comme dans l'expérience précédente, s'était aldéhydifié beaucoup plus vite après la précipitation des matières tannoïdes et le vin chauffé était resté très en arrière. Dans le vin chauffé contenant SO<sup>2</sup>, l'aldéhydification était deux fois plus grande que dans le vin cassable, tandis que pour le vin chauffé, additionné également de SO<sup>2</sup>, il n'y a pas de différence avec le vin simplement chauffé. Donc la présence de SO<sup>2</sup> dans le vin primitif, ayant empêché la casse, ne paraît avoir eu aucune influence positive sur la formation de l'aldéhyde, et l'excédent de cette formation ne peut être attribué qu'à l'oxydase restée active; c'est-à-dire que l'oxygène, absorbé en aussi grande quantité que dans le vin naturel, s'était porté davantage sur l'alcool à la faveur de l'oxydase, et sans doute aussi à la faveur de l'oxydation des matières tannoïdes qui avait eu lieu sans coagulation.

Avec des vins blancs obtenus à l'aide de raisins atteints de pourriture noble très accentuée, on peut obtenir des résultats analogues, comme le montrent les deux exemples suivants :

NUMÉROS DES VINS	ALDÉHYDE AVANT AÉRATION	ALDÉHYDE APRÈS 4 JOURS D'AÉRATION		
		VINNON CHAUFFÉ	VIN CHAUFFÉ	VIN SULFITÉ
	milligr.	milligr.	milligr.	milligr.
1	7,5	32,0	40,0	50,0
2	Traces.	76,0	90,0	100,0

On retrouve ici, entre les vins non chauffés et chauffés, des différences analogues à celles qui ont été remarquées pour les vins rouges cassables, où, à côté de l'aldéhydification, s'exerce

une action contraire, laquelle paraît être paralysée par la présence de l'acide sulfureux.

*Action de l'oxydase précipitée par l'alcool.* — Les vins cassables, rouges ou blancs, traités par l'alcool concentré donnent un précipité abondant de matières dextriniformes, provenant des transformations de la dextrane sécrétée par le *Botrytis*. Il en est de même avec un moût qui a servi de liquide de culture au *Botrytis cinerea* pur. Ces précipités, qui sont imprégnés d'oxydase, sont assez solubles dans l'eau alcoolisée à 10 p. 100 et acidifiée légèrement par l'acide tartrique, qui augmente le pouvoir dissolvant du liquide.

Des solutions ainsi obtenues ayant été expérimentées comme précédemment fournirent les résultats suivants :

APRÈS 4 JOURS D'AÉRATION	PRÉCIPITÉ DE VIN CASSABLE n° 1	PRÉCIPITÉ DE MOÛT (CULTURE DE BOTRYTIS) n° 2
	milligr.	milligr.
Liquide naturel. . . . .	22	22,5
— chauffé . . . . .	17,5	Traces.
— naturel + SO <sup>2</sup> . . .	29,0	21,0
— chauffé + SO <sup>2</sup> . . .	19,0	Traces.

Avec le précipité n° 1 les variations de l'aldéhydification sont analogues à celles qui ont été constatées dans les vins cassables; mais avec le précipité n° 2, les différences sont beaucoup plus nettes : les liquides chauffés, qu'il y ait ou non de l'acide sulfureux, ne se sont pas aldéhydifiés, alors que les liquides non chauffés, avec ou sans acide sulfureux, se sont aldéhydifiés avec la même intensité.

Les différences entre les deux solutions s'expliquent par la différence de composition des précipités, et il semble bien que le précipité n° 2 était le plus pur parce qu'il provenait d'un liquide n'ayant pas fermenté. Toutefois, ces deux solutions ont donné un résultat commun qui présente le maximum d'intérêt, c'est que la présence de l'acide sulfureux n'a pas modifié beaucoup l'action de l'oxydase. Ce fait vient à l'appui de ceux que j'ai établis antérieurement et qui montrent que, si l'acide sulfureux empêche la casse des vins, ce n'est pas en portant atteinte

à l'oxydase elle-même, mais en modifiant l'affectation de l'oxygène qui est convoyé par la diastase.

CONCLUSIONS. — L'aldéhydification des vins peut donc être favorisée par trois agents catalytiques principaux : 1° les matières tannoïdes plus ou moins combinées à la potasse; 2° l'œnoxydase; 3° l'oxydase du *Botrytis cinerea*.

La pasteurisation des vins normaux ainsi que l'addition d'acide sulfureux gênent le plus souvent l'aldéhydification, sans jamais l'empêcher complètement. La pasteurisation agit de même dans les vins cassables, mais non l'acide sulfureux, qui favorise au contraire l'aldéhydification en empêchant la casse.

#### IV. — DÉSALDÉHYDIFICATION SPONTANÉE.

On a vu plus haut qu'un vin pasteurisé à 80° s'aldéhydifie à l'air et même en vase clos, s'il a été aéré préalablement.

Dans ce dernier cas, la formation d'aldéhyde atteint un maximum au bout de quelques jours et la dose qui existe alors persiste en général pendant longtemps.

Si on prend un vin jeune non chauffé, on trouve le plus souvent une différence très nette avec les résultats précédents ainsi que le montre l'expérience suivante :

EXPÉRIENCE DU 26 JANVIER	ALDÉHYDE PAR LITRE	
	30 JANVIER	14 FÉVRIER
	milligr.	milligr.
Vin naturel exposé à l'air . . . . .	45,0	—
Témoin pasteurisé à 80°. . . . .	9,5	—
Vin naturel aéré et mis en tube scellé sans air.	10,0	Traces.
Vin naturel aéré, chauffé et mis en tube scellé sans air . . . . .	13,0	13,0

Donc il y a eu désaldéhydification dans le vin naturel, mais non dans le vin chauffé. Ces deux vins, ayant subi une deuxième aération pour être remis en tubes scellés sans air, donnèrent après seize jours de conservation :

Vin pasteurisé . . . . . 18 milligr. d'aldéhyde.  
 Vin naturel . . . . . Traces d'aldéhyde.



La deuxième aération ne paraissait avoir produit aucun effet sur le vin naturel, grâce à la désaldéhydification, tandis que le vin pasteurisé avait pu s'enrichir de 5 milligrammes d'aldéhyde.

Si on ajoute de l'aldéhyde dans un vin non aéré, on peut également le voir disparaître en proportion assez importante, comme dans l'exemple suivant, où la désaldéhydification s'est exercée du 14 novembre au 5 décembre.

NATURE DES VINS	ALDÉHYDE AJOUTÉ par litre	ALDÉHYDE RETROUVÉ par litre
	milligr.	milligr.
Vin primitif . . . . .	50	Néant.
— primitif . . . . .	100	Néant.
— primitif . . . . .	150	Traces.
— primitif . . . . .	200	15
Vin témoin pasteurisé à 80° . . . . .	100	110

Cette désaldéhydification, qui est empêchée par le chauffage préalable du vin, peut se produire avec assez d'intensité au contact de l'air également dans bien des cas. Je citerai entre autres celui de l'expérience ci-dessous :

NATURE ET NUMÉROS DES ESSAIS	ALDÉHYDE AJOUTÉ par LITRE	ALDÉHYDE RETROUVÉ	
		3 JOURS après	6 JOURS après
	milligr.	milligr.	milligr.
Exposition { Vin naturel . . . 1	»	11,3	20,8
à { Vin naturel . . . 2	20	34,0	29,4
l'air : { Vin pasteurisé . . 3	»	5,5	20,8
Conservation { Vin naturel . . . 4	20	Traces.	Traces.
en { Vin naturel . . . 5	40	15,0	Traces.
tubes scellés : { Vin pasteurisé . . 6	40	45,6	45,6

Malgré l'addition d'aldéhyde dans l'essai n° 2, il y a presque équilibre d'aldéhydification avec le n° 1, au bout de trois jours d'aération; le vin n° 2 a donc perdu de l'aldéhyde pendant que le n° 1 en gagnait. Cette perte était due à la désaldéhydification, qui s'était accusée très nettement dans les essais nos 4 et 5. On retrouve l'influence du chauffage dans le n° 6. Le vin

n° 3 est resté en arrière tout d'abord par rapport au n° 1, mais il avait rattrapé le temps perdu au bout de six jours. Quant à l'essai n° 2, il ne dépassait ses voisins que de 9 milligrammes alors que l'excédent aurait dû être de 20 milligrammes; l'équilibre se serait vraisemblablement établi avec quelques jours de plus d'aération.

La désaldéhydification est plus active à l'abri de l'air qu'au contact de l'air, et dans ce dernier cas, elle paraît s'atténuer beaucoup et même devoir cesser complètement après un certain temps.

Dans les vins naturels, l'aldéhydification constatée est donc la résultante des deux phénomènes, et, suivant leur intensité relative, il peut se faire que dans le vin chauffé, où l'aldéhydification est cependant réduite, elle soit égale et même supérieure à celle du vin naturel, au début de l'aération, comme je l'ai observé dans bien des cas.

La désaldéhydification est vraisemblablement en rapport avec la réductase sécrétée par la levure pendant la fermentation du moût de raisin, et sur la présence de laquelle j'aurai l'occasion de revenir. Le chauffage du vin, en atténuant ou détruisant complètement cette diastase, diminue beaucoup le phénomène, en général, mais il peut rester encore assez sensible dans certains vins comme le montrent les exemples suivants :

NATURE DES VINS	18 NOVEMBRE	4 JANVIER	DIFFÉRENCES
	milligr.	milligr.	milligr.
Vin rouge 1913 . . . . . { Naturel. }	25	8	17
{ Chauffé. }		16	9
Vin blanc de raisins { Naturel. }	50	Traces.	50
sains . . . . . { Chauffé. }		37	13
Vin blanc de raisins { Naturel. }	17	Traces.	17
pourris . . . . . { Chauffé. }		6	11
Vin de chasselas . . . . { Naturel. }	92,5	Néant.	92,5
{ Chauffé. }		92,5	0

Il y a toujours des différences très accentuées entre les vins naturels et les vins chauffés; toutefois, il semble que la constitution du vin ait aussi une certaine influence sur la désaldéhydification. Elle s'est produite dans tous les cas sans aucune modification de la limpidité des vins rouges ou blancs.

*Influence de l'acide sulfureux.* — L'addition d'acide sulfureux dans un vin capable de se désaldéhydifier arrête totalement le phénomène, comme on le voit dans l'expérience ci-après :

EXPÉRIENCE DU 24 DÉCEMBRE	27 DÉCEMBRE	13 JANVIER
	milligr.	milligr.
Vin naturel + 50 milligr. d'aldéhyde, . . . .	5,0	Traces.
Vin chauffé + 50 milligr. d'aldéhyde . . . .	50,0	38
Vin naturel + 50 milligr. d'aldéhyde et 50 milligr. de $\text{SO}^2$ . . . . .	50,0	50

Dans une autre expérience faite avec un vin tourné, 95 milligrammes d'aldéhyde sur 100 milligrammes ajoutés disparurent au bout de sept jours, tandis que dans l'essai contenant 150 milligrammes de  $\text{SO}^2$ , la dose d'aldéhyde resta intacte.

Donc, en passant à l'état d'acide aldéhyde-sulfureux, l'aldéhyde résiste complètement à l'action réductrice du milieu, qui sera mieux étudiée plus tard.

*Influence du vieillissement du vin.* — On sait que l'aération atténue la désaldéhydification; quant à sa disparition complète elle dépend des traitements subis par le vin. Ainsi, pour des vins mis en bouteilles très jeunes, à l'âge de deux mois environ, j'ai constaté que le pouvoir désaldéhydifiant était encore assez notable huit ans après, et il était plus grand dans les vins où les microbes anaérobies avaient agi davantage, comme le montrent les chiffres ci-dessous :

N <sup>os</sup> des VINS	ACIDITÉ VOLATILE	ALDÉHYDE AJOUTÉ LE 1 <sup>er</sup> FÉVRIER	ALDÉHYDE RETROUVÉ LE 16 FÉVRIER	
			VIN NATUREL	VIN CHAUFFÉ
	gr.	milligr.	milligr.	milligr.
1	0,50	40	35	35
2	0,68	40	29	38
3	1,00	40	Néant.	38
4	0,35	40	25	38

Ces vins ayant été préparés au laboratoire et conservés dans les mêmes conditions, leur pouvoir désaldéhydifiant primitif devait donc être à peu près le même; il paraît avoir disparu complètement dans un cas, tandis qu'il s'est conservé plus ou moins dans les autres, sans doute parce que l'action microbienne avait augmenté le pouvoir réducteur du milieu, et gêné son oxydation par la production de  $\text{CO}^2$ . Mais dans tous les cas, il n'y avait aucune trace d'aldéhyde dans les vins au moment de l'ouverture des bouteilles.

Au contraire, dans tous les vins qui ont été conservés comme d'habitude, c'est-à-dire avec un séjour assez long en barrique avant la mise en bouteilles et avec des soutirages et soufrages nombreux, il y a plus ou moins d'aldéhyde, même après une longue conservation, et aussi de l'acide sulfureux, le plus souvent en quantité plus que suffisante pour fixer l'aldéhyde, comme le montrent les chiffres suivants trouvés dans des vins rouges de la Gironde :

ANNÉES DES VINS	ALDÉHYDE par litre	ACIDE SULFUREUX par litre	ALDÉHYDE CORRESPONDANT à $\text{SO}^2$
	milligr.	milligr.	milligr.
1900	8,0	13,0	8,9
1904	18,5	38,4	25,6
1905	9,0	22,0	15,1
1906	22,0	32,8	22,8
1908	14,0	28,0	19,2
1911	24,0	54,8	37,6

Le pouvoir désaldéhydifiant de ces vins fut essayé en leur ajoutant 40 milligrammes d'aldéhyde libre et les conservant en vase clos pendant un mois, mais la dose totale ne varia pas sensiblement pendant ce temps.

Les phénomènes d'aldéhydification et de désaldéhydification présentent donc des différences très marquées suivant les deux modes de conservation du vin étudiés, et au point de vue des résultats du vieillissement, il est établi depuis longtemps que le second est bien supérieur au premier. La combinaison de l'acide sulfureux avec l'aldéhyde, par ses propriétés antiseptiques, est certainement un des facteurs importants de cette supériorité.



CONCLUSIONS. — A côté des actions aldéhydifiantes qui s'exercent dans les vins ayant absorbé de l'oxygène de l'air, il existe des actions inverses qui font disparaître l'aldéhyde formé naturellement ou celui qui est ajouté expérimentalement, si le vin est privé du contact de l'air et s'il est assez jeune.

Cette désaldéhydification spontanée qui se produit sans modification de la limpidité des vins, peut être rapprochée du fait indiqué par Pasteur, que les vins trop aérés, qui ont contracté le goût et l'odeur d'évent, perdent ces défauts après un certain temps de conservation à l'abri de l'air. La formation d'aldéhyde est incontestablement une des causes principales des modifications des qualités gustatives du vin, et la disparition de cet aldéhyde est également une raison importante du retour des qualités primitives.

Dans les vins qui vieillissent en barriques, puis en bouteilles, le pouvoir désaldéhydifiant s'atténue de plus en plus, surtout si le vin reçoit de l'acide sulfureux. L'aldéhyde est fixé à l'état d'acide aldéhyde-sulfureux dont les propriétés physiologiques sont très favorables à la conservation du vin sans gêner le développement des qualités dues au vieillissement.

#### V. — ALDÉHYDIFICATION ET DÉSALDÉHYDIFICATION PHYSIOLOGIQUES.

Les divers organismes microscopiques qui exercent une action physiologique sur le vin peuvent se classer en trois groupes : 1° les levures, 2° les mycodermes, 3° les ferments filiformes des maladies anaérobies.

RÔLE DES LEVURES ALCOOLIQUES. — D'après les recherches de Rœser, la fermentation alcoolique donne de l'aldéhyde même en milieu tout à fait anaérobie; mais la quantité est plus grande quand l'air n'est pas aussi complètement écarté.

Donc tous les vins rouges sortant de la cuve, ou les vins blancs jeunes pris au foudre ou à la barrique, devraient toujours contenir de l'aldéhyde, tandis que les exceptions sont extrêmement nombreuses, surtout pour les vins rouges. L'expérience suivante montre, en effet, que l'aldéhyde produit pendant la fermentation peut avoir disparu complètement lorsque le vin est fait.

Le moût était contenu dans une bouteille fermée par un bou-

chon ferment hermétiquement et ficelé qui portait un tube effilé rempli jusqu'à la pointe fermée à la lampe. La fermentation étant commencée, on ouvrait la pointe du tube pour laisser sortir une petite quantité de moût, qui était remplacée par du  $\text{CO}_2$ , et on refermait la pointe. Des prises successives de liquide furent faites, de la même manière, dans ce moût au cours de la fermentation, sans que l'air pénétrât sensiblement dans la bouteille. L'expérience porta sur des moûts différents et donna les résultats ci-après :

DATES	MOUT DE CHASSELAS SAIN				MOUT DE RAISINS BLANCS POURRIS			
	MOUT NATUREL		MOUT BOUILLI		MOUT NATUREL		MOUT BOUILLI	
	Sucre fermenté	Aldéhyde	Sucre fermenté	Aldéhyde	Sucre fermenté	Aldéhyde	Sucre fermenté	Aldéhyde
	gr.	milligr.	gr.	milligr.	gr.	milligr.	gr.	milligr.
23 oct.	30	45	20	35	40	85	35	65
29 oct.	69	75	44	62,5	60	113	55	90
13 nov.	150	52,5	120	55	110	90	95	80
30 nov.	194	45,0	176	50	198	17	141	20
4 janv.	200	Traces	200	Traces	255	Traces	270	Traces

On voit que l'aldéhyde apparaît dès le début de la fermentation; sa proportion atteint assez rapidement un maximum, puis elle diminue moins vite qu'elle a augmenté. Après la disparition du sucre, il en reste des quantités plus ou moins importantes, mais si on maintient le vin à l'abri de l'air, il finit par se désaldéhydifier complètement. La présence de la levure n'est pas nécessaire pour cela, comme on l'a déjà vu, mais elle favorise en général le phénomène.

Entre les moûts naturels et bouillis, il y a des écarts assez sensibles et qui tiennent vraisemblablement à ce que la quantité d'oxygène dissous dans le milieu est plus faible dans le moût bouilli. De sorte que la production d'aldéhyde est peut-être simplement liée à la quantité d'oxygène dissous ou faiblement combiné que le milieu peut offrir au développement de la levure, et quand ce dernier a atteint son maximum, le milieu étant devenu très réducteur, la désaldéhydification s'exerce de plus en plus.

Ces résultats ne sont pas particuliers au moût de raisin ni à

une levure spéciale, car avec un liquide fermentescible, constitué par de l'eau de levure et du sucre interverti et ensemencé avec des levures diverses, on a trouvé les résultats ci-dessous :

NATURE DES LEVURES	25	8	6	DU 10 DÉCEMBRE AU 19 JANVIER	
	NOVEMBRE, MILIEU de la fermentation	DÉCEMBRE, FIN de la fermentation	JANVIER, LIQUIDE et levure	LIQUIDE clair non chauffé	LIQUIDE clair chauffé
	milligr.	milligr.	milligr.	milligr.	milligr.
Levure de brasserie.	55	12,0	Néant.	Néant.	8,0
— de Médoc . . .	53	31,0	Néant.	Néant.	22,5
— de Sauternes .	58	33,5	Traces.	Néant.	33,5
— de Monbazillac.	53	32,5	Traces.	20	25,0
— de Lussac. . .	52	35,0	Traces.	20	28,0

La production et la disparition de l'aldéhyde ont donc suivi la marche de l'expérience précédente pendant et après la fermentation du sucre. Dans les liquides clairs non chauffés, la désaldéhydification est toujours plus intense que dans les liquides chauffés, comme pour les vins. Entre les capacités de désaldéhydification des divers liquides fermentés, il y a des différences qui paraissent en relation avec la race de la levure.

Dans le cas des fermentations viniques où la nature du moût et le mélange des races de levure sont variables, le phénomène présente des variations analogues qui dépendent aussi des conditions techniques de la vinification.

*Présence d'une réductase.* — Le pouvoir réducteur de la levure est connu depuis longtemps, et d'après Harden, ce pouvoir se retrouve dans le suc de levure et dans la zymine, qui contiennent une réductase. Elle peut passer en partie dans le liquide fermenté où sa présence se décèle par diverses actions réductrices, telles que la décoloration du bleu de méthylène ou la réduction des aldéhydes. On peut même la faire agir sur l'aldéhyde en dehors de son milieu primitif après précipitation par l'alcool, comme dans l'expérience suivante :

Un vin complètement désaldéhydifié provenant d'un moût de raisin ayant fermenté à l'abri de l'air avec une quantité assez importante de levure, fut concentré dans le vide à moitié

de son volume et traité ensuite par deux volumes d'alcool fort. Le précipité filtré au bout d'une heure fut redissous dans l'eau alcoolisée à 10 p. 100 et acidulée par 0,5 p. 100 d'acide tartrique. Quant au liquide de précipitation, il fut distillé pour chasser l'alcool et ramené ensuite à son volume primitif. Avec la solution diastasique et ce liquide résiduel, on fit divers essais qui donnèrent les résultats suivants :

EXPÉRIENCES DU 6 MAI		RÉSULTATS DU 16 MAI	
NATURE DES ESSAIS	ALDÉHYDE ajouté	ALDÉHYDE restant	ALDÉHYDE disparu
	milligr.	milligr.	milligr.
1 <sup>o</sup> Solution diastasique non chauffée . . .	60	28	32
2 <sup>o</sup> Solution diastasique chauffée . . . . .	60	45	15
3 <sup>o</sup> { 50 p. 100 sol. diastasique non chauffée.	60	23	37
{ 50 p. 100 liquide résiduel. . . . .			
4 <sup>o</sup> { 50 p. 100 solut. diastasique chauffée.	60	55	5
{ 50 p. 100 liquide résiduel . . . . .			

Donc la présence de la réductase s'est accusée d'une façon certaine dans la solution diastasique non chauffée, et l'on voit que son action est beaucoup plus marquée lorsqu'elle est remplacée dans son milieu primitif.

*Influence de l'aération sur la réductase.* — Un liquide fermenté complètement désaldéhydifié servit à faire les essais indiqués dans le tableau suivant contenant les résultats obtenus au bout d'un mois environ.

NATURE DES ESSAIS	ALDÉHYDE AJOUTÉ par litre	ALDÉHYDE DISPARU par litre
	milligr.	milligr.
1 <sup>o</sup> Liquide non chauffé . . . . .	40	40
2 <sup>o</sup> { 50 p. 100 liquide non chauffé . . }	40	19
{ 50 p. 100 liquide chauffé . . . . }		
3 <sup>o</sup> Liquide chauffé . . . . .	40	3
4 <sup>o</sup> { Liquide { 1 jour d'aération . .	40	20
5 <sup>o</sup> { nature { 3 jours d'aération . .	40	14
6 <sup>o</sup> { après { 6 jours d'aération . .	40	10
7 <sup>o</sup> { 10 jours d'aération . .	40	Traces.



On voit que l'aération avait fini par détruire complètement les propriétés désaldéhydifiantes de ce liquide fermenté, dans lequel d'ailleurs, il ne se formait que des traces d'aldéhyde pendant l'exposition à l'air.

*Fermentation en présence d'acide sulfureux.* — Dans un travail sur l'acide sulfureux combiné dans les moûts et les vins publié récemment, j'ai montré que la fermentation d'un moût de raisin contenant de l'acide sulfureux combiné produit une quantité d'aldéhyde supérieure à celle qui correspondrait au passage de tout l'acide dans le composé  $C^2H^4O$ ,  $SO^2$ . Sous cette forme, l'aldéhyde résiste beaucoup mieux à l'action réductrice du milieu fermenté, comme le montre l'expérience suivante faite dans des conditions très favorables à la désaldéhydification.

De l'eau de levure, additionnée de moût de raisin et contenant environ 20 grammes de sucre par litre, reçut 100 milligrammes d'aldéhyde : 1° à l'état libre; 2° à l'état d'acide aldéhyde-sulfureux.

La fermentation ayant eu lieu en tubes scellés, on trouva les résultats suivants au bout d'un mois.

	ALDÉHYDE LIBRE	ALDÉHYDE COMBINÉ
Témoin non fermenté . . . . .	100 milligr.	100 milligr.
Liquide fermenté . . . . .	Néant.	75 milligr.

Donc, même en présence de la levure, l'action réductrice du milieu n'a pu faire disparaître que 25 milligrammes d'aldéhyde combiné à  $SO^2$ , alors qu'à l'état libre, les 100 milligrammes ajoutés ont disparu, et ce chiffre aurait sans doute pu être beaucoup plus important.

Nous avons vu précédemment que, dans le vin, l'acide sulfureux empêche complètement la désaldéhydification, pour la même raison que dans cette dernière expérience.

*RÔLE DES MYCODERMES.* — Le *Mycoderma vini* est bien connu comme agent d'aldéhydification, et M. Trillat, notamment, a donné des résultats qui établissent nettement ce rôle. J'indiquerai cependant ceux que j'ai obtenus de mon côté en cultivant le mycoderme à l'état pur, sur de l'eau de levure alcoolisée, dans un vase à large surface et avec courant d'air.

Le tableau suivant contient des chiffres trouvés dans cette expérience.

DATES	ALCOOL	ALDÉHYDE par litre milligr.
1 <sup>er</sup> juin. . . . .	9°0	»
8 juin. . . . .	8°9	40
15 juin. . . . .	8°8	80
29 juin. . . . .	8°5	60
15 juillet. . . . .	6°8	50
3 août. . . . .	6°0	40
25 septembre. . . . .	5°4	20

La proportion d'aldéhyde a augmenté jusqu'à 80 milligrammes par litre au début du développement de la couche mycodermique, puis elle a diminué de plus en plus, à mesure que l'alcool était consommé par la plante en plus grande quantité. Il semble que cette combustion plus énergique de l'alcool entraînait en même temps une oxydation plus intense de l'aldéhyde qui est vraisemblablement un produit intermédiaire de la réaction.

Peu de temps après le dernier dosage d'aldéhyde, une addition d'alcool fut faite au liquide pour ramener le titre aux environs de 9°; deux jours après, la dose d'aldéhyde était remontée à 40 milligrammes, et elle ne dépassa pas ensuite 50 milligrammes par litre.

Aucun doute n'existe actuellement sur l'origine physiologique de cette production d'aldéhyde; dans le cas présent cette origine fut prouvée par l'absence d'une formation sensible d'aldéhyde dans le même liquide de culture contenant du *Mycoderma vini* stérilisé et conservé dans les mêmes conditions que celui de la culture active.

D'après les recherches de M. Voisenet, le *Mycoderma vini* donnerait, à côté de l'aldéhyde acétique, des traces d'aldéhyde formique qui peuvent être mises en évidence avec le réactif spécial qu'il a indiqué et que nous retrouverons plus loin.

J'ai pu confirmer ce résultat, non seulement en étudiant la culture précédente, mais surtout avec un vin qui était resté très longtemps, avec une couche abondante de fleurs à sa surface, dans un fût à moitié plein et qui contenait une forte dose

de produits aldéhydiques. En effet, la réaction Voisenet donnait dans les deux cas une coloration violette, qui était particulièrement intense pour le vin (1).

Les mycodermes acétifiants sont des producteurs d'aldéhydes analogues au précédent, avec prédominance considérable pour l'aldéhyde acétique également. On sait qu'il y a des races assez nombreuses de ces organismes dont l'activité varie beaucoup. J'indiquerai les résultats que j'ai obtenus avec deux microbes A et B, ayant tous les deux l'aspect du *Mycoderma aceti* de Pasteur, et qui avaient étéensemencés séparément dans un même vin stérilisé :

	ACIDITÉ VOLATILE par litre	ALDÉHYDE par litre
Mycoderme A . . . . .	87 gr. 4	60 milligr.
Mycoderme B . . . . .	72 gr. 0	600 milligr.
Vin témoin stérilisé. . . . .	0 gr. 7	25 milligr.

L'aldéhyde produit étant, sans aucun doute, un terme de passage entre l'alcool et l'acide acétique, on voit que le microbe A était un agent d'acétification supérieur au microbe B ; mais celui-ci avait l'avantage de provoquer la décoloration rapide du vinaigre, grâce à la production de cette grande quantité d'aldéhyde comprenant une notable proportion d'aldéhyde formique, ce dernier étant un agent de coagulation des matières tannoïdes bien plus actif que l'aldéhyde acétique.

RÔLE DES FERMENTS ANAÉROBES. — Les diverses races de ferments filiformes des vins peuvent se cultiver, comme je l'ai montré depuis longtemps, dans un liquide type constitué par de l'eau de levure sucrée avec du moût de raisin et alcoolisée à 5 p. 100 au moins.

Dans ces cultures, non seulement on ne rencontre pas d'aldéhyde, mais, au contraire, le liquide jouit de propriétés réductrices pour les aldéhydes (aldéhyde acétique, acroléine, etc.) au moins aussi énergiques qu'avec les levures.

(1) La présence d'aldéhydes autres que l'aldéhyde acétique dans les produits de la distillation des liquides étudiés se décelait déjà par le réactif à la rosaniline décolorée, car la coloration obtenue était très persistante, tandis qu'avec l'aldéhyde acétique cette coloration est assez fugace, surtout pour de faibles doses.

Ainsi, avec quatre microbes d'origine différente, j'ai obtenu les résultats ci-dessous :

ORIGINE DES MICROBES	NATURE DES LIQUIDES DE CULTURE	ALDÉHYDE AJOUTÉ LE 8 AVRIL	ALDÉHYDE RETROUVÉ LE 5 MARS
		milligr.	milligr.
Vin amer . . . .	Naturel . . . . .	60	Néant.
	Chauffé . . . . .		56
Vin tourné . . . .	Naturel . . . . .	60	Néant.
	Chauffé . . . . .		55
Piquette rouge tournée. . . . .	Naturel . . . . .	60	Néant.
	Chauffé . . . . .		60
Piquette blanche filante. . . . .	Naturel . . . . .	60	Néant.
	Chauffé . . . . .		58

Ces liquides de culture, où l'aldéhyde ajouté avait si complètement disparu, étaient en outre capables de réduire le bleu de méthylène; ils contenaient donc vraisemblablement une réductase sécrétée par les microbes. Quand ces organismes se développent dans le vin en cuve, en barrique ou en bouteille, ils augmentent toujours les propriétés désaldéhydifiantes du milieu, indépendamment des modifications qu'ils apportent à sa constitution.

*Présence d'acroléine dans les vins amers.* — Les recherches de M. Voisenet ont montré que les produits aldéhydiques que l'on peut extraire des vins amers contiennent de l'acroléine, dont l'origine semble être l'attaque de la glycérine par le ferment de la maladie.

A l'aide du réactif acide chlorhydrique nitreux et albumine employé par M. Voisenet, j'ai pu obtenir la réaction qu'il indique pour l'acroléine, avec plusieurs vins altérés de la Dordogne et de la Gironde. Mais j'estime que la relation qui paraît exister entre la maladie du vin et la présence de l'acroléine est encore très vague, malgré les conclusions de M. Voisenet, tirées de ses cultures du ferment de l'amertume. Cette opinion résulte des essais que j'ai faits personnellement avec le liquide de culture indiqué comme étant favorable au développement de ce ferment, et qui est constitué par le liquide minéral de Laurent peptonisé et glycérimé. En effet, avec



aucun des microbes isolés des vins amers que j'ai étudiés, je n'ai obtenu aucun développement sensible dans ce milieu liquide, qu'il fût aéré ou qu'il fût privé d'air.

Par contre, j'ai trouvé dans l'eau de la ville de Bordeaux, comme M. Voisenet dans celle de Dijon, un microbe apte à se développer dans le liquide glycérimé contenu dans des matras Pasteur, en donnant des produits volatils réagissant comme l'acroléine sur le réactif spécial. Mais ce microbe n'a aucun des caractères des organismes capables de vivre dans le vin, car il est essentiellement aérobie et ne se développe pas si le liquide est alcoolisé à 3 p. 100 seulement. En outre, ensemencé dans le liquide type des ferments filiformes du vin en tubes anaérobies, cet organisme ne s'y est pas multiplié. Il n'y a donc pas d'assimilation possible entre ce microbe de l'eau et le ferment de l'amertume, et celle qui a été faite par M. Voisenet me paraît absolument illusoire, d'autant plus qu'il n'a établi aucun contrôle ayant pour but de faire admettre que le microbe isolé de son vin amer était bien le ferment de l'amertume, et non un microbe banal se retrouvant dans l'eau potable.

On peut accepter cependant que le ferment de l'amertume peut être la cause de l'existence d'acroléine dans les vins altérés, mais on ne sait pas si cette acroléine que l'on trouve surtout dans les vins amers très vieux, en bouteilles, ayant coulé plus ou moins, et par conséquent très oxydés, résulte de l'action directe du microbe sur la glycérine, ou bien si elle n'est que le résultat de l'oxydation d'un produit intermédiaire.

CONCLUSIONS. — Parmi les organismes microscopiques qui vivent dans le vin, seuls les aérobies facultatifs (levures diverses) et les aérobies stricts (mycodermes) sont des producteurs d'aldéhyde. Certains ferments anaérobies paraissent donner de l'acroléine en attaquant la glycérine du vin, mais cette action physiologique a besoin d'être mieux étudiée.

Les levures et les microbes anaérobies sécrètent dans le vin des réductases qui peuvent contribuer à la désaldéhydification complète du vin s'il est conservé à l'abri de l'air, mais qui ne peuvent agir sensiblement sur l'aldéhyde combiné à l'acide sulfureux.

VI.<sup>e</sup> — CONCLUSIONS GÉNÉRALES.

Les agents catalytiques et physiologiques d'aldéhydification du vin qui ont été étudiés exercent leur influence principalement sur les vins jeunes pendant la conservation en barriques qui favorise plus ou moins le contact du vin avec l'oxygène de l'air. Mais à côté de ces influences qui tendent à faire augmenter l'aldéhyde, il y a des influences contraires au moins aussi importantes puisqu'elles peuvent entraîner la désaldéhydification complète du vin lorsqu'il est maintenu à l'abri de l'air. C'est pour cette raison qu'on ne trouve jamais que de très petites quantités d'aldéhyde dans les vins rouges conservés normalement, et qu'elles sont toujours combinées à l'acide sulfureux provenant des méchages, tandis que dans les vins blancs, elles sont en général beaucoup plus importantes, à cause du mode de vinification et grâce à l'emploi de plus fortes doses d'acide sulfureux qui fixent l'aldéhyde de la même manière.

L'aldéhydification toujours si réduite des vins rouges normaux ne peut donc avoir une action bien sensible sur la précipitation des matières tannoïdes; et, dans le cas des vins cassables, l'aldéhyde ne joue aucun rôle puisqu'il ne se forme qu'après une oxydation très avancée de ces matières. De même, pendant le vieillissement normal et prolongé en bouteille, l'aldéhydification et son influence sur le dépouillement du vin sont à peu près nulles, comme je l'ai montré encore mieux dans un travail sur le vieillissement du vin, où l'influence des ferments des maladies anaérobies sur l'aldéhydification a été également plus étudiée.

Enfin l'aldéhydification, combattue par la désaldéhydification, n'a qu'une influence passagère, mais toujours défavorable, sur le bouquet des vins rouges en barrique. Elle est également nuisible aux vins blancs lorsque l'acide sulfureux fait défaut, parce qu'elle correspond à une madérisation plus ou moins prononcée. Seuls, les vins spéciaux qui tirent d'une oxydation énergique une partie de leurs qualités, peuvent bénéficier de l'aldéhydification parce qu'elle se transforme bientôt en une acétalisation qui est favorable au développement du bouquet caractéristique de ces vins.

## VII. — BIBLIOGRAPHIE.

- BERTHELOT. — Sur les éthers contenus dans les vins et sur quelques-uns des changements qui s'y produisent (*Comptes rendus de l'Acad. des Sc.*, t. LVII, 1863).
- PASTEUR. — *Études sur le vin*. Paris, 1866.
- TRILLAT. — L'aldéhyde acétique dans le vin : son origine et ses effets (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. XXII, 1908).
- DUBOURG. — Étude sur l'*Helycomycelium fuliginosum* (*Mémoires de la Société des Sciences phys. et nat. de Bordeaux*, t. III, 1903).
- KAYSER et DEMOLON. — Influence de l'aération sur la formation des produits volatils dans la fermentation alcoolique (*Comptes rendus de l'Acad. des Sc.*, t. CXLVIII, 1909).
- ROESER. — Sur la formation d'aldéhydes pendant la fermentation alcoolique (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VII, 1893).
- TRILLAT et SAUTON. — Rôle des levures dans la formation de l'aldéhyde acétique en milieu alcoolique (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. XXIV, 1910).
- Sur la disparition de l'aldéhyde en présence des levures (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. XXIV, 1910).
- S. KOSTYTSCHEW. — Sur la formation d'aldéhyde acétique dans la fermentation alcoolique (*Ber. d. deutschen chem. Ges.*, t. XLV, 1912).
- S. KOSTYTSCHEW et E. HUBBENET. — Sur la formation d'alcool éthylique aux dépens de l'aldéhyde acétique par la levure vivante et la levure tuée (*Zeitschrift f. physiol. Chem.*, t. LXXXIII, 1912).
- S. KOSTYTSCHEW. — Les conditions de la formation de l'aldéhyde acétique dans la fermentation par la levure tuée (*Zeitschr. f. physiol. Chemie*, t. LXXXIII, 1913).
- PASSERINI. — *Stazione sperim. Agr. Ital.*, vol. XXIV, p. 221).
- MARTINAND. — De l'emploi de l'acide sulfureux en vinification (*Bulletin de la Société des Agriculteurs de France*, 1910).
- R. PELTIER. — L'aldéhyde, sa formation et sa disparition dans la fermentation alcoolique (*Procès-verbaux de la Société des Sciences phys. et nat. de Bordeaux*, 27 novembre 1913).
- J. LABORDE. — L'acide sulfureux combiné dans les moûts et les vins (*Revue de Viticulture*, 1916).
- C. NEUBERG et J. KERB. — Sur les processus de la fermentation par la levure (*Ber. der deutsch. chem. Ges.*, t. XLVI, 1913).
- A. HARDEN et R. NORRIS. — Les Enzymes qui restent dans la zymine et la levure sèche de Lebedew après lavage à l'eau (*Biochemical Journal*, t. VIII, p. 100, 1914).
- VOISENET. — Formation d'acroléine dans la maladie de l'amertume des vins (*Comptes rendus de l'Acad. des Sc.*, t. CL, 1910).
- STOECKLIN. — Nouvelle méthode permettant de déceler des traces d'alcools, (*Comptes rendus de l'Acad. des Sc.*, t. CL, 1910).
- GOUIRAUD. — Sur la présence d'une diastase dans les vins cassés (*Comptes rendus de l'Acad. des Sc.*, t. CXX, 1895).
- MARTINAND. — Action de l'air sur le moût de raisin et le vin (*Comptes rendus de l'Acad. des Sc.*, t. CXXI, 1895).



- J. LABORDE. — Sur la casse des vins (*Comptes rendus de l'Acad. des Sc.*, t. CXXII, 1896).
- Sur l'oxydase du *Botrytis cinerea* (*Comptes rendus de l'Acad. des Sc.*, t. CXXV, 1898).
- BOUFFARD et SEMICHON. — Procédés de vinification basés sur les propriétés de l'oxydase des raisins (*Revue de Viticulture*, t. IX, 1898).
- CAZENEUVE. — Sur le ferment soluble oxydant de la casse des vins (*Comptes rendus de l'Acad. des Sc.*, t. CXXIV, 1897).
- TRILLAT. — Sur les propriétés de la formaldéhyde (*Comptes rendus de l'Acad. des Sc.*, t. CXIV, 1892).
- MARTINAND. — La casse des vins (*Revue de Viticulture*, t. IX, 1898).
- Sur l'origine des dépôts de la matière colorante des vins rouges (*Revue de Viticulture*, t. XXVIII, 1907).
- J. LABORDE. — Sur l'absorption d'oxygène dans la casse des vins (*Comptes rendus de l'Acad. des Sc.*, t. CXXV, 1897).
- Étude sur les matières tannoïdes du vin (*Revue de Viticulture*, 1910).
- VOISENET. — De la production de petites quantités d'aldéhyde formique dans l'oxydation de l'alcool éthylique par voie chimique, physique et physiologique (*Comptes rendus de l'Acad. des Sc.*, t. CL, 1910).
- J. LABORDE. — Sur les ferments des maladies des vins (*Comptes rendus de l'Acad. des Sc.*, t. CXXVI, 1898).
- Sur le ferment de la maladie des vins poussés ou tournés (*Comptes rendus de l'Acad. des Sc.*, t. CXXXVIII, 1904).
- Recherches sur le vieillissement des vins (*Mémoires de la Société des Sciences phys. et nat. de Bordeaux*, 1916).
- VOISENET. — Nouvelles recherches sur les vins amers et la fermentation acrylique de la glycérine (*Comptes rendus de l'Acad. des Sc.*, t. CLI, 1910).
- Sur un ferment contenu dans les eaux, agent de déshydratation de la glycérine (*Annales de l'Institut Pasteur*, 1904).

Le Gérant : G. MASSON.